

## 明 細 書

## 温度応答性ハイドロゲル

## 5 技術分野

本発明は、ヒアルロン酸及びポリアルキレンオキシド誘導体からなる化合物に関する。更に詳しくは、ヒアルロン酸及びポリアルキレンオキシド誘導体からなる温度応答性ハイドロゲルに関する。

## 10 背景技術

近年、大きく損傷したりまたは失われた生体組織と臓器の治療法の1つとして、細胞の分化、増殖能を利用し元の生体組織及び臓器に再構築する技術である再生医療の研究が活発になってきている。軟骨再生もそのひとつであり、下記の様に積極的な検討が行われている。

15 (1)コラーゲンを用いた基材を足場とした軟骨再生(Biomaterials.17, 155-162 (1996))

(2)不溶性ベンジルエステル化ヒアルロン酸を用いた細胞培養基材(米国特許第5 939323号明細書、J.Biomed.Mater.Res.42:2, 172-81(1998)、J.Biomed. Mater.Res.46:3, 337-346(1999)、J.Ortho.Res.18:5, 773-380(200

20 0))

(3)架橋ヒアルロン酸体を用いた軟骨細胞培養基材(J.Ortho.Res.17, 205-213(1999))

(4)ポリ乳酸、ポリグリコール酸を用いた組織再生基材(特表平10-513386号公報)

25 しかし前述の例は、細胞採取する際及び体内にインプラントする際に2度の切開手術が必要であり患者の負担が非常に大きい。この課題を解決するために、今後内視

鏡手術が増えると考えられ、内視鏡手術に適した人工材料の開発が非常に重要と  
なってくる。求められる人工材料の特性として、1)形状を自在にコントロールできる  
(患部に直接注入できる)、2)細胞、成長因子を容易に埋包できるなどが考えられ、  
温度応答性ハイドロゲルはこの条件に非常に適した材料であるので、再生医療にお  
5 いてメリットが大きいと考えられる。

温度応答性ハイドロゲルとは、水環境下において、ある温度以下では水和し、ある  
温度以上では脱水することにより体積変化を引き起こすLower Critical Soluti  
on Temperature(LCST)タイプと、逆にある温度以上で水和することにより体積  
変化を引き起こすUpper Critical Solution Temperature(UCST)タイプに分  
10 類することが出来る。これら2つのタイプのうちでは、応答の速さ等の面に優れるLC  
STの性質を有するタイプのハイドロゲルの方がドラッグデリバリーシステムにおいて、  
好ましく使用されている。LCSTの性質を有するタイプのハイドロゲルは、例えば、あ  
る温度以下では高分子と水との相互作用が優先するために水溶液中に均一に溶解  
しているが、ある温度以上になると水和よりも高分子の凝集の方が優勢になるため  
15 に脱水して、水溶液が白濁、ついには沈殿するポリマーである。即ち水-高分子  
系においてLCSTの性質を有するポリマーを主成分とし、該ポリマーを何らかの方法  
で3次元架橋することによって温度応答性ハイドロゲルを得ることが出来る。

水-高分子系においてLCSTの性質を有するポリマーとしては、ポリ(N-イソプロ  
ピルアクリルアミド)等のN-置換(メタ)アクリルアミド誘導体、ポリ(N-アクリロイル  
20 ピロリジン)、ポリ(N-アクリロイルピペリジン)等の含窒素環状ポリマー、ポリ(N-  
アクリロイル- $\epsilon$ -プロリン)等のビニル基含有アミノ酸とそのエステル類、ポリ(ビニ  
ルメチルエーテル)、ポリ(エチレングリコール)/ポリ(プロピレングリコール)、ポリ乳  
酸-ポリグリコール酸-ポリエチレンオキッド共重合体が知られている。これらのポ  
リマーの中で、転移がシャープであり、相転移温度が生体系への応用に適するポリ  
25 マーとしてポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)共重合体が代表的であり、共重合成  
分による相転移温度の制御、相転移温度の改善、相転移メカニズムの解明の各観

点から盛んに研究が展開されている。

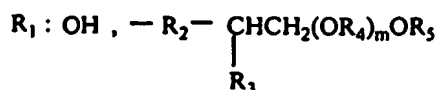
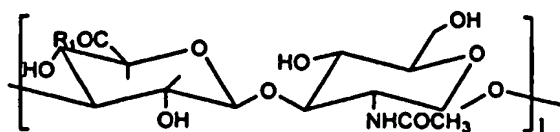
- しかし、現状においては生体内にインプラント可能な生体吸収性を示す温度応答性ハイドロゲルは殆ど無く、既存のものとしてポリ(エチレングリコール)/ポリ(プロピレングリコール)(TISSUE ENGINEERING Vol 8, No 4, 709(2002))、ポリ乳酸-ポリグリコール酸-ポリエチレンオキシド共重合体(Journal of Controlled Release, 72, 203(2001))しかない。しかしこれらポリマーは合成高分子であるため、生体マトリックス材料と比較すると生体親和性が低い等の問題が考えられる。そこで、生体マトリックス材料に温度応答性を付与できれば、生体吸収性及び生体親和性に優れた理想的な温度応答性ハイドロゲルが得られると予想される。
- 10 生体マトリックス材料に温度応答性を付与する試みとして、キトサン(国際公開 WO 01/36000号明細書)、ヒアルロン酸(国際公開 WO 99/24070号明細書)の例が挙げられるが、相転移温度が高く生体内での利用が困難であると考えられるものや、追試において相転移現象を確認できない等問題がある。

## 15 発明の開示

本発明の主な目的は、生体吸収性及び生体親和性に優れた温度応答性ハイドロゲルを提供することにある。更に詳しくは、多様な応答温度領域に対応できる温度応答性ハイドロゲルを提供する。

本発明は以下の通りである。

- 20 1. 下記一般式で表されるヒアルロン酸及びポリアルキレンオキシド誘導体からなる化合物であって、



.....(1)

(R<sub>2</sub>はNH, O、R<sub>3</sub>はH, CH<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>はC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>, CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)、R<sub>5</sub>はH, CH<sub>3</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>、のいずれかである。またlは300~30,000、mは3~140までの整数である。)

- 5 ヒアルロン酸のカルボキシル基100当量ポリアルキレンオキシド誘導体残基の含有量が5~100当量であるハイドロゲル。

図面の簡単な説明

図1は、ジェファーマン(登録商標)XTJ-507をヒアルロン酸のカルボキシル基100当量に対しヒアルロン10当量導入した化合物の相転移挙動図。

- 10 図2は、ジェファーマン(登録商標)XTJ-507をヒアルロン酸のカルボキシル基100当量に対しヒアルロン50当量導入した化合物の相転移挙動図。

図3は、ジェファーマン(登録商標)XTJ-507をヒアルロン酸のカルボキシル基100当量に対しヒアルロン100当量導入した化合物の相転移挙動図。

図4は、ヒアルロン酸ナトリウムの相転移挙動図。

- 15 図5は、ヒアルロン酸プロピルエステルの相転移挙動図。

発明を実施するための最良の形態

以下、本発明について詳述する。なお、これらの実施例等および説明は本発明を例示するものであり、本発明の範囲を制限するものではない。本発明の趣旨に合致する限り他の実施の形態も本発明の範疇に属し得ることは言うまでもない。

- 20 本発明で使用されているヒアルロン酸は、動物組織から抽出したもの、または発酵法で製造したもののどちらでも使用できる。発酵法で使用する菌株はストレプトコッカス属のヒアルロン酸生産能を有する微生物であり、ストレプトコッカス・エクイFM-10

0(特開昭63—123392号公報)、ストレプトコッカス・エクイFM—300(特開平2—234689号公報)が挙げられる。これらの変異株を用いて培養、精製されたものを用いる。またヒアルロン酸の分子量は、約 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$ ダルトンのものが好ましい。なお本発明でいうヒアルロン酸は、そのアルカリ金属塩、例えば、ナトリウム、

5 カリウム、リチウムの塩をも包含する。

本発明で使用されているポリアルキレンオキシドは、1)ポリプロピレングリコール、あるいは2)ポリ(プロピレングリコール)およびポリ(エチレングリコール)からなる共重合体が好ましい。ヒアルロン酸にアミド結合により導入する場合には、1-アミノポリプロピレングリコールメトキシド、1-アミノポリプロピレングリコールエトキシド、1-アミノポリプロピレングリコールプロポキシド、1-アミノポリプロピレングリコールブトキシド、1-アミノポリ(プロピレングリコール)/ポリ(エチレングリコール)メトキシド、1-アミノポリ(プロピレングリコール)/ポリ(エチレングリコール)エトキシド、1-アミノポリ(プロピレングリコール)/ポリ(エチレングリコール)プロポキシド、1-アミノポリ(プロピレングリコール)/ポリ(エチレングリコール)ブトキシドなど末端にアミノ

10 基を有する化合物が挙げられる。また、ヒアルロン酸にエステル結合により導入する場合には、1-クロロポリプロピレングリコールメトキシド、1-クロロポリプロピレングリコールエトキシド、1-クロロポリプロピレングリコールプロポキシド、1-クロロポリプロピレングリコールブトキシド、1-クロロポリ(プロピレングリコール)/ポリ(エチレングリコール)メトキシド、1-クロロポリ(プロピレングリコール)/ポリ(エチレングリコール)エトキシド、1-クロロポリ(プロピレングリコール)/ポリ(エチレングリコール)プロポキシド、1-クロロポリ(プロピレングリコール)/ポリ(エチレングリコール)ブトキシド、1-ブロモポリプロピレングリコールメトキシド、1-ブロモポリプロピレングリコールエトキシド、1-ブロモポリプロピレングリコールプロポキシド、1-ブロモポリプロピレングリコールブトキシド、1-ブロモポリ(プロピレングリコール)/ポリ(エチレングリコール)メトキシド、1-ブロモポリ(プロピレングリコール)/ポリ(エチレングリコール)エトキシド、1-ブロモポリ(プロピレングリコール)/ポリ(エチレングリコール)

20 25

プロポキシド、1-ブロモポリ(プロピレングリコール)ノポリ(エチレングリコール)ブトキシド、1-ヨードポリプロピレングリコールメトキシド、1-ヨードポリプロピレングリコールエトキシド、1-ヨードポリプロピレングリコールプロポキシド、1-ヨードポリプロピレングリコールブトキシド、1-ヨードポリ(プロピレングリコール)ノポリ(エチレングリコール)メトキシド、1-ヨードポリ(プロピレングリコール)ノポリ(エチレングリコール)エトキシド、1-ヨードポリ(プロピレングリコール)ノポリ(エチレングリコール)プロポキシド、1-ヨードポリ(プロピレングリコール)ノポリ(エチレングリコール)ブトキシドなど末端にハロゲン基を有する化合物が挙げられる。

上記のポリアルキレンオキシド誘導体の分子量は、200～6,000のものが好ましい。200以下であるとヒアルロン酸との反応生成物が温度応答性を示さない。また、6,000以上であると沈殿物が生じハイドロゲルを形成しない。

ポリ(プロピレングリコール)およびポリ(エチレングリコール)からなる共重合体を用いる場合は、ポリ(プロピレングリコール)ノポリ(エチレングリコール)の共重合比が1/99～99.9/0.1のものが好ましい。さらに好ましくは20/80～99.9/0.1のものが好ましい。この範囲外であるとヒアルロン酸との反応生成物は温度応答性を示さない。

ポリアルキレンオキシド誘導体の含有量は、ヒアルロン酸のカルボキシル基100当量に対し5～100当量が好ましい。5当量以下であるとヒアルロン酸との反応生成物は温度応答性を示さない。

ヒアルロン酸とポリアルキレンオキシド誘導体の典型的な反応方法は、以下の2通りが挙げられる。

#### (I) アミド結合

ヒアルロン酸ナトリウムをテトラヒドロフラン/水 混合溶媒に溶解し、1-アミノポリアルキレンオキシドを加える。0.1M HCl/0.1M NaOHを添加しpH 6.8に調整した後、1-Ethyl-3-[3-(dimethylamino)propyl]-carbodi-imide(EDC)、1-hydroxybenzotriazole(HOBT)を添加する。終夜攪拌後、透析により精製、

凍結乾燥を行い、目的物を得る。

## (II) エステル結合

ヒアルロン酸-テトラ-*n*-ブチルアンモニウム塩を*N*-メチルピロリドンに溶解し、1-ブロモポリアルキレンオキンドを加える。37℃で60時間攪拌した後、塩化ナトリウムを加え30分間放置する。その後アセトンで再沈殿を行い、目的物を得る。

### 【実施例】

以下の実施例により、本発明の詳細をより具体的に説明する。しかし、本発明はこれら実施例に限定されるものではない。

本実施例に使用したヒアルロン酸ナトリウムはストレプトコッカス属由来の平均分子量が1,000,000のヒアルロン酸ナトリウムであり、これは  $M_w/M_n = 3.500$  に相当する。その他の試薬についてはテトラヒドロフラン、0.1M HCl、0.1M NaOH、1-Ethyl-3-[3-(dimethylamino)propyl]-carbodiimide (EDC)、1-Hydroxybenzotriazole (HOBt)、テトラ-*n*-ブチルアンモニウムブロミド、ヨウ化プロピル、*N*-メチルピロリドンは和光純薬工業(株)製、ジェファーマン(登録商標)XTJ-507 (ポリ(プロピレングリコール)/ポリ(エチレングリコール)の共重合比が39/6、概略分子量が2,000)はハンツマン・コーポレーション製を使用した。

### 【実施例1】

ヒアルロン酸ナトリウム 100mgをテトラヒドロフラン/水=3/2(v/v) 40mlに溶解した。この溶液に、ジェファーマン(登録商標)XTJ-507 120mg(0.00006mol) (ヒアルロン酸のカルボキシル基100当量に対し10当量)を加え、更に0.1M HCl/0.1M NaOHを添加し、pH6.8に調整した。1-Ethyl-3-[3-(dimethylamino)propyl]-carbodiimide (EDC) 12mg(0.000066mol)、1-hydroxybenzotriazole (HOBt) 10mg(0.000066mol)をテトラヒドロフラン/水=3/2 10mlに溶解し、反応系に添加し、終夜攪拌を行った。攪拌後、透析精製を行い、凍結乾燥し目的の化合物を得た。確認は<sup>1</sup>H NMR(日本電子 JNM- $\alpha$ 400)により行い、目的物の生成を確認した。

凍結乾燥品30mgをイオン交換水970mgに溶解し、濃度3wt%のハイドロゲルを調整した。このハイドロゲルの相転移挙動を調べるために、Rheometer RF III(TA Instrument)を使用し、10～50℃の温度領域で複素弾性率、粘度の測定を行った。その結果を図1に示す(G:複素弾性率、Eta:粘度を表す)。30℃より、複素弾性率、  
5 粘度の上昇が確認され50℃で飽和に達した(すなわちゾルからゲルへの転移を表す)。つまり、30～50℃で温度相転移が起こったことが明らかとなった。

#### [実施例2]

ジェファーマン(登録商標)XTJ-507 600 mg(0.0003mol)(ヒアルロン酸のカルボキシル基100当量に対し50当量)、1-Ethyl-3-[3-(dimethyl-amino)propyl]-carbodiimide(EDC) 60mg(0.00033mol)、1-hydroxybenzotriazole(HOBt)50mg(0.00033mol)、濃度1wt%とした以外は、実施例1と同様。結果を図2に示す。  
10

#### [実施例3]

ジェファーマン(登録商標)XTJ-507 1200mg(0.0006mol)(ヒアルロン酸のカルボキシル基100当量に対し100当量)、1-Ethyl-3-[3-(dimethyl-amino)propyl]-carbodiimide(EDC) 120mg(0.00066mol)、1-hydroxybenzotriazole(HOBt)100mg(0.00066mol)、濃度0.5wt%とした以外は、実施例1と同様。結果を図3に示す。  
15

相転移の温度制御については、実施例1～3に対応する図1～3の曲線が立ち上がる温度、つまり相転移開始温度を比較するとヒアルロン酸に導入されるジェファーマン(ポリアルキレンオキシド誘導体)の量が多いほど、低温側にシフトしていることが分かる。つまりジェファーマン(ポリアルキレンオキシド誘導体)の導入量をコントロールすることで、所望の相転移温度を有するヒアルロン酸ハイドロゲルを調製することが可能となる。  
20

その他、使用するポリアルキレンオキシド誘導体の分子量、ヒアルロン酸の分子量によっても相転移温度は変えられるものと考えられる。  
25



再生医療領域においては、このようなハイドロゲルをInjectable gelとして内視鏡手術に応用するという期待がある。Injectable gelは、体温より低温の領域では液状で細胞や液性因子を簡単に混入でき、体内に注入すると体温によりゲルになることで取扱い性にすぐれたScaffoldとして期待されている。そのため体温付近で相転移を起こすゲルでないとInjectable gelとしては使用できない。

然しながら、本発明のハイドロゲルは、体温に近い温度で相転移を起こすのでInjectable gelとして使用可能である。

上記のように本発明は、ヒアルロン酸及びポリアルキレンオキシド誘導体からなる、生体吸収性及び生体親和性に優れた温度応答性ハイドロゲルを提供できる。この温度応答性ハイドロゲルは、内視鏡手術をターゲットとした再生医療における人工材料として有用である。

#### [比較例1]

ヒアルロン酸ナトリウム10mgを、水1mlに溶解し、実施例1と同様に相転移挙動の観察を行った。結果を図4に示す。

#### 15 [比較例2]

国際公開第99/24070号明細書を参考に追試実験を行った。詳細は以下の通りである。

20 カラム(Φ1.2×L20cm)にイオン交換樹脂(DOWEX(登録商標)50WX8;Total exchange capacity 1.9eq/l)を充填し、テトラ-*n*-ブチルアンモニウムブロミド水溶液(48g/100ml)を流し置換した。置換後、pHが中性になるまでイオン交換水を流し、次にヒアルロン酸ナトリウム水溶液(2g/1000ml)をカラムに通した後凍結乾燥を行い、ヒアルロン酸テトラ-*n*-ブチルアンモニウム塩を得た。

25 得られたヒアルロン酸テトラ-*n*-ブチルアンモニウム塩1gを*N*-メチルピロリドン50mlに溶解し、室温でヨウ化プロピルを0.20g(0.0012mol)をゆっくりと滴下し、37℃で60時間攪拌した。攪拌後、塩化ナトリウム1gを加え30分間放置した後、250mlのアセトンを加え沈殿物を得た。得られた沈殿物は、アセトン/水=80/20(ml

／ml)200mlで洗浄を行い、真空乾燥し目的物を得た。(このとき、硝酸銀を加え、塩化物イオンが除かれていることを確認する)。確認は<sup>1</sup>H NMR(日本電子 JNM- $\alpha$ 400)により行い、目的物の生成(エステル化度50%)を確認した。相転移挙動については、濃度15wt%の条件で実施例1と同様の観察を行った。結果を図5

5 に示す。

比較例1,2のハイドロゲルは共に相転移が確認されなかった。このことから本発明で得られた生体吸収性及び生体親和性に優れた温度応答性ハイドロゲルは、内視鏡手術をターゲットとした再生医療における人工材料への利用が期待できる。

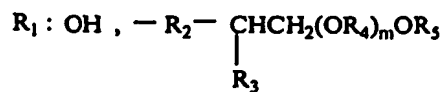
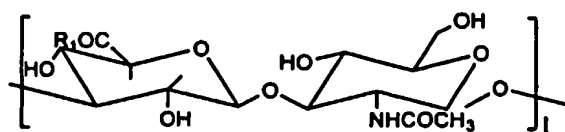
## 10 産業上の利用可能性

この温度応答性ハイドロゲルは、内視鏡手術をターゲットとした再生医療における人工材料として有用である。

請 求 の 範 囲

1. 下記一般式(1)で表されるヒアルロン酸及びポリアルキレンオキシド誘導体からなる化合物であって、

5



.....(1)

(R2はNH,O、R3はH,CH3、R4はC2H4,CH2CH(CH3)、R5はH,CH3,C2H5,C4H9、のいずれかである。またlは300~30,000、mは3~140までの整数である。)

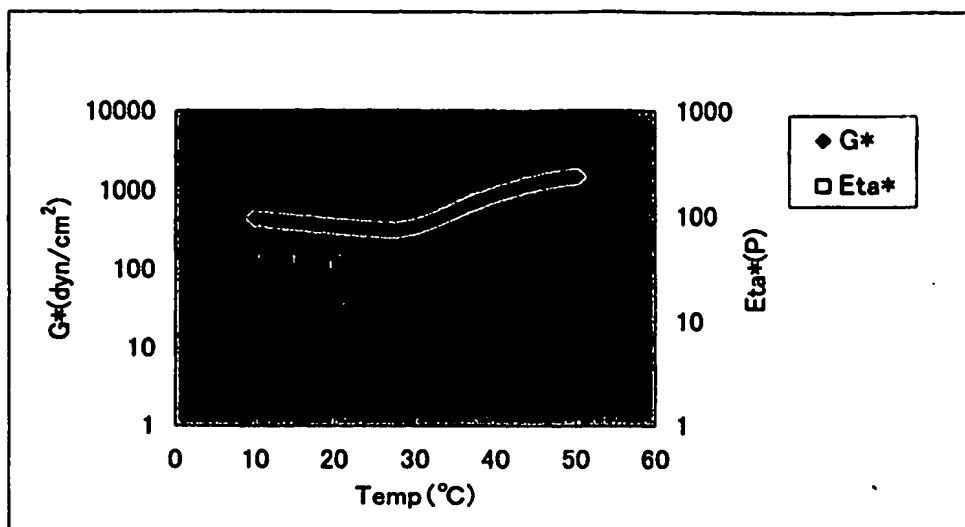
10

ヒアルロン酸のカルボキシル基100当量に対し、R1の内のポリアルキレンオキシド誘導体残基を5~100当量含有する化合物。

2. 請求項1記載の化合物からなるハイドロゲル。

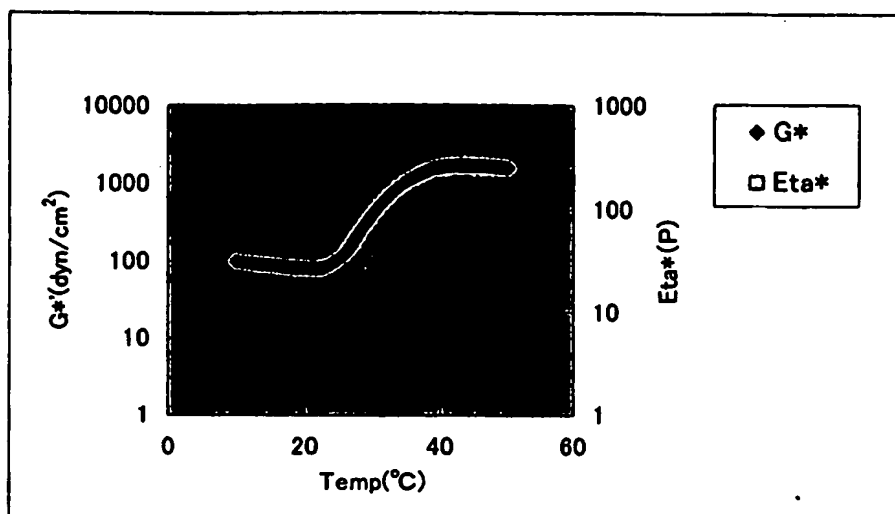
1 / 5

【図 1】



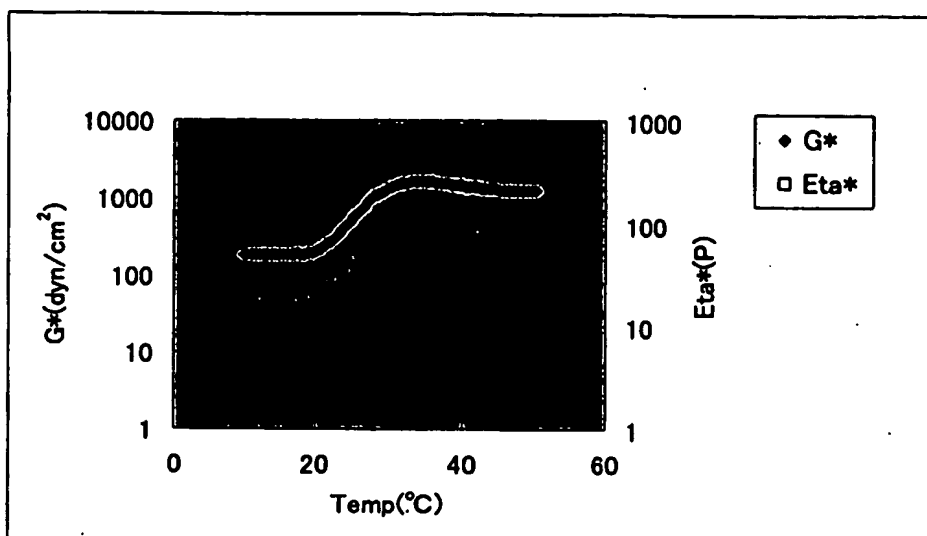
2 / 5

【図 2】



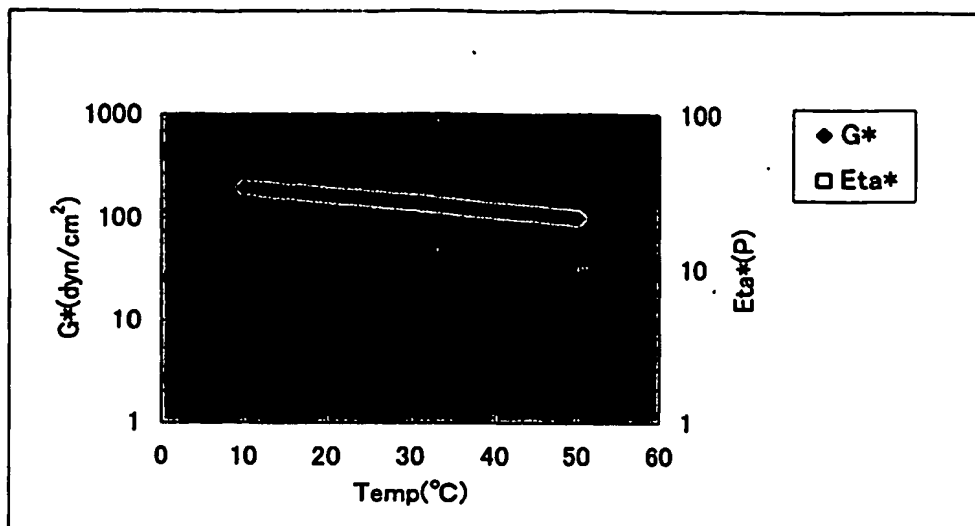
3 / 5

【図 3】



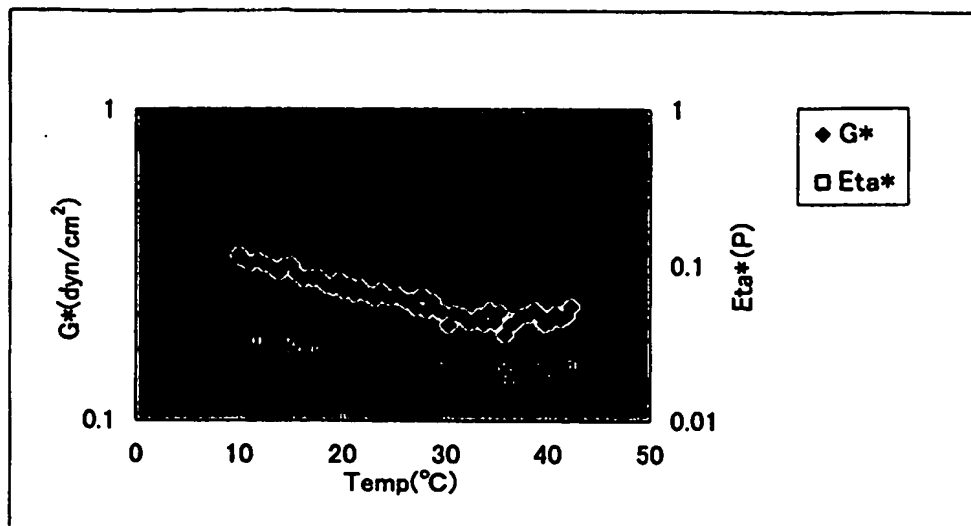
4 / 5

【図 4】



5 / 5

【図 5】





# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/011006

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> C08G81/00//C08L71/00, A61F2/30, A61L27/00, A61K47/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> C08G81/00, C08L71/00, A61F2/30, A61L27/00, A61K47/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1926-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2004
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2004	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2004

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAS ONLINE

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 07-278203 A (Collagen Corp.), 24 October, 1995 (24.10.95), Claims; pages 12 to 13; Par. Nos. [0081] to [0082] & EP 656215 A1 Page 10; line 46 to page 11, line 19 & CA 2134745 A & US 5470911 A	1, 2
A	WO 2003/028781 A1 (Japan Science and Technology Corp.), 10 April, 2003 (10.04.03), Claims & JP 2003-055401 A	1, 2

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

27 August, 2004 (27.08.04)

Date of mailing of the international search report

14 September, 2004 (14.09.04)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

**PCT/JP2004/011006**

<b>C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
<b>Category*</b>	<b>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</b>	<b>Relevant to claim No.</b>
<b>A</b>	WO 2002/044276 A2 (FOCAL, INC.) 06 June, 2002 (06.06.02), Claims; page 5, lines 10 to 29; page 6, lines 22 to 30 & JP 2004-514778 A Page 5, Par. Nos. [0018] to [0020]; page 6, Par. No. [0023] & AU 200219935 A & EP 1370610 A2 & US 2002/0127196 A1	<b>1,2</b>

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> C08G81/00  
 // C08L71/00 A61F2/30 A61L27/00 A61K47/00

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> C08G81/00 C08L71/00 A61F2/30 A61L27/00 A61K47/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1926-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2004年
日本国実用新案登録公報	1996-2004年
日本国登録実用新案公報	1994-2004年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAS ONLINE

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 07-278203 A (コラーゲン・コーポレイション) 1995. 10. 24, 特許請求の範囲, 第12-13頁【0081】-【0082】& EP 656215 A1, 第10頁第46行-第11頁第19行& CA 2134745 A& US 5470911 A	1, 2

☒ C欄の続きにも文献が列举されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献  
 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
 「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

27. 08. 2004

国際調査報告の発送日

14. 9. 2004

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)  
 郵便番号100-8915  
 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

天野 宏樹

4 J

9 2 7 2

電話番号 03-3581-1101 内線 3456

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	WO 2003/028781 A1 (科学技術振興事業団) 2003.04.10, 特許請求の範囲&JP 2003-055401 A	1, 2
A	WO 2002/044276 A2 (FOCAL, INC.) 2002.06.06, 特許請求の範囲, 第5頁第10-29行, 第6頁第22-30行&JP 2004-514778 A, 第5頁【0018】-【0020】, 第6頁【0023】&AU 200219935 A&EP 1370610 A2&US 2002/0127196 A1	1, 2

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**